

## Partenaires:

LDSMM → pilotage, analyses MD, Raman,  $\mu$ DSC, MDSC  
 LLB CEA/Saclay → diffusion neutrons (élast, inélast.)  
 Lille 2 → Pharmaceutique: screening, applications thérapeutiques  
 Université d'Orléans → diffusion aux petits angles par rayonnement synchrotron, neutronique

## Motivation: essor de nouvelles biomolécules thérapeutiques très peu stables

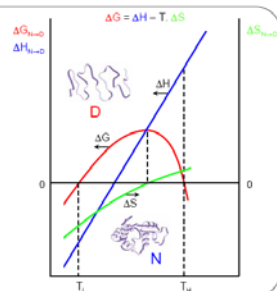
- nécessité de lyophiliser les biomolécules
- nouvelles méthodes d'administration de biomolécules (implants)

### Protéines marginalement stables (qq kcal.mol<sup>-1</sup>)

Stabilité dépend de nombreux paramètres physico-chimiques :

- Température
- Pression
- Cisaillement
- Adsorption (glace)
- Solutés stabilisateurs (sucres/polyols)
- Concentration
- pH
- Hydratation
- Agents dénaturants

Gain d'enthalpie de « packing »  
 Interactions entre résidus hydrophobes

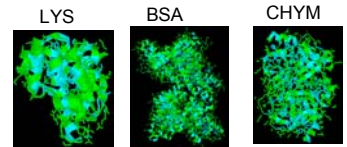


### Mécanismes de stabilisation: les hypothèses

- Formation d'un verre
  - Remplacement des LHS eau-biomolécules
  - Couche d'hydratation
  - Interconversion  $T_{2H_2O}/T_\alpha$
  - Effet destructurant
- aucune pleinement satisfaisante

Augmentation de l'entropie de configuration  
 >  
 diminution des interactions entre résidus hydrophobes

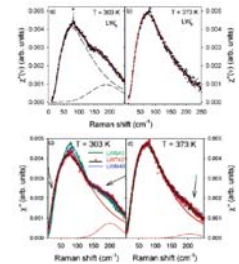
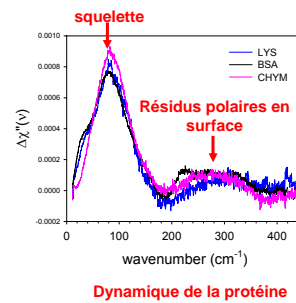
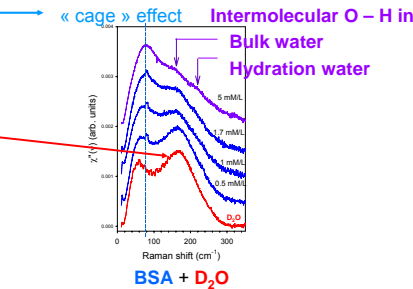
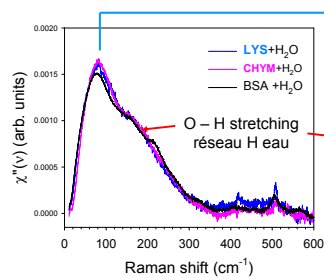
### Choix des molécules biologiques



LYS	BSA	CHYM
Lysozyme 14.3 kDa	Albumine 66 kDa	Chymotrypsine 22 kDa
Hélices + feuilletés	hélices	Feuillets +hélices

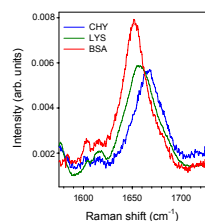
## Analyses par spectroscopie Raman du mécanisme de stabilisation des protéines par les sucres à haute température

### À basse fréquence: → dynamique de la protéine et du solvant

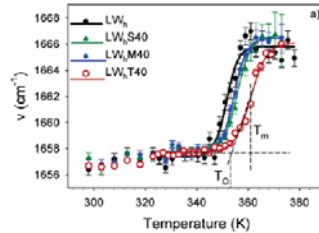


Renforcement des interactions O-H dans le réseau H de l'eau en présence de sucres

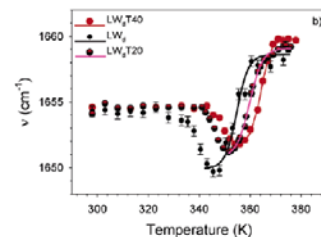
### Région de la bande amide I → sonde de la structure secondaire et suivi in-situ du dépliement de la structure secondaire



Fréquence de la bande amide I: caractéristique de la structure secondaire



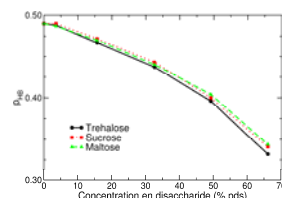
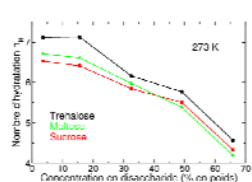
Courbe de dénaturation de LYS: détermination de l'énergie de stabilisation de la protéine par les sucres →  $\Delta(\Delta G_{ND})$



Trehalose → réduction de la surface exposée → stabilisation de la structure tertiaire

## Modélisation moléculaire

### Systèmes eau-sucres



### Systèmes eau-lysozyme-sucres

